云 南 植 物 研 究 2008，30 (2)：159～167
Acta Botanica Yunnanica DOI: 10.3724/SP. J. 1143. 2008. 07118

几种常用分子标记遗传多样性参数的统计分析*

张德全[1,2]，杨永平[1**]
(1 中国科学院昆明植物研究所，云南 昆明 650204；2 中国科学院研究生院，北京 100049)

摘要：对 235 篇文献中 314 种野生种子植物的遗传多样性参数进行了统计分析。结果表明，目前常用的五种分子标记中，ISSR、等位酶和 SSR 的参数值间差异显著，彼此不宜直接比较，且与 RAPD 和 AFLP 的参数也不宜直接比较；显性标记 RAPD 和 AFLP 的参数之间可以直接比较。基于 Hardy-Weinberg 平衡的遗传分化指数 G_{st} 值明显低于基于 AMOVA 分析的 Φ_{st} 值，两者亦不宜直接比较。对基于 RAPD 和 AFLP 标记的 179 种植物的遗传多样性参数进行联合分析，结果表明：在种群水平上，裸子植物的遗传多样性比双子叶植物和单子叶植物都要高，而其遗传分化值较低；乔木的遗传多样性比草本和灌木高，而分化值更低；克隆植物具有比有性生殖更高的遗传多样性，在有性生殖植物中，异交植物最高，而自交植物最低；广布种的遗传多样性明显高于濒危和狭域分布种。

关键词：遗传多样性；生活史特性；显形标记；等位酶；SSR
中图分类号：Q 16 **文献标识码**：A **文章编号**：0253 - 2700 (2008) 02 - 159 - 09

A Statistical and Comparative Analysis of Genetic Diversity Detected by Different Molecular Markers *

ZHANG De-Quan[1,2]，YANG Yong-Ping[1**]
(1 *Kunming Institute of Botany*，*Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204，China；
2 *Graduate University of Chinese Academy of Sciences*，Beijing 100049，China)

Abstract: This paper presented a statistical and comparative analysis of common parameters of plant genetic diversity by using relevant data of 314 wild plant species from 235 published articles . The results indicated that the parameters of genetic diversity revealed by RAPD and AFLP are comparable，but all parameters of genetic variation detected by ISSR，allozyme and SSR are incomparable，which are not comparative with those by RAPD and AFLP . The genetic differentiation value G_{st} based on Hardy-Weinberg equilibrium is obviously lower than the value Φ_{st} based on AMOVA analysis，which showed that these two parameters are incomparable as well . Furthermore，the statistical and comparative results of genetic diversity of 179 plant species by RAPD and AFLP indicated that at population level：1) the genetic diversity of gymnosperm is higher than those of both dicotyledon and monocotyledon of angiosperm，but lower genetic differentiation；2) the genetic diversity of tree is higher than those of shrub and herb，but lower genetic differentiation；3) the clonal plant has higher genetic diversity than those reproduce sexnally，and 4) the cross-breeding plant has higher genetic diversity than self-breeding plant；5) the widespread plant species has higher genetic diversity than the rare，endangered or endemic species .
Key words: Genetic diversity；Life history；Dominant molecular markers；Allozyme；SSR

遗传多样性是生物多样性的重要组成部分，是地球上所有生物携带的遗传信息的总和（施立明，1993)。遗传多样性主要是指种内不同群体之间或同一群体内不同个体间遗传变异的总和。

* 基金项目：国家自然科学基金项目 (30370118)
** 通讯作者：Author for correspondence；E-mail：yangyp@mail.kib.ac.cn
收稿日期：2007 - 06 - 12，2007 - 09 - 11 接受发表
作者简介：张德全 (1980 -) 男，在读博士研究生，主要从事保护生物学和谱系地理学研究。

这种变异可以体现在不同水平上，主要包括种群水平、个体水平、组织和细胞水平以及分子水平(Moritz and Hillis，1990)。

遗传多样性研究具有重要的理论和实际意义。通过物种遗传多样性和遗传结构的研究可以揭示其进化历史和进化潜力(Soltis，1991；Ge 等，1997)。濒危物种的种群遗传学研究可作为物种的保护和种群恢复的理论基础(Hamrick and Godt，1996)。经济植物的遗传多样性研究对其野生资源的可持续利用和保护至关重要(Han 等，2007)。对外来入侵植物遗传多样性和遗传结构的研究，可了解其种群动态和入侵机制，并为外来入侵植物的控制和管理提供科学依据(Sakai 等，2001；Lee，2002；Ren 等，2005)。

遗传多样性的检测方法主要有 4 类：形态标记、细胞学标记、生化标记和分子标记(邱芳等，1998)。广义的分子标记是指可遗传且可检测的特异 DNA、RNA 序列或蛋白质序列，而狭义的分子标记专指 DNA 标记。与形态标记、细胞学标记和生化标记相比，分子标记具有以下优越性：(1) 直接以核酸作为研究对象，在植物体内的各个组织、各个发育时期均可检测，不受季节、环境限制，与发育时期无关；(2) 标记数量极多，遍及整个基因组；(3) 多态性高，由于自然界存在许多等位变异，无需专门创造特殊的遗传材料；(4) 有许多分子标记表现为共显性，能鉴别纯合和杂合基因型，可提供完整的遗传信息(郑成木，2002)。

分子标记是随着分子生物学技术的发展而不断发展的。1980 年，美国的 Botstein 提出 DNA 限制性酶切片断长度多态性(RFLP)可以作为遗传标记(Botstein，1980)，开创了直接应用 DNA 多态性发展遗传标记的新阶段。而随着 DNA 多聚酶链式反应(PCR)技术的出现，许多新型的分子标记运用而生。根据多态性检测手段的不同可将其分为三类：基于 Southern 杂交技术的分子标记；基于 PCR 反应的分子标记；PCR-RFLP 结合产生的 AFLP 标记等。当前应用比较广泛的分子标记主要有显性标记 RAPD、ISSR、AFLP 和共显性标记 SSR 等(郑成木，2002)。

严格地说，等位酶是一种生化标记，具共显性特性。自上世纪 60 年代以来，就作为检测遗传多样性基本方法，在动植物中得到广泛应用，积累了大量资料，并在采样原则、实验方法、数据处理和结果分析等方面都形成了一套统一的标准(Soltis and Soltis，1989；Crawford，1990)。Ayala and Kiger (1984) 和 Hamrick and Godt (1989) 等先后对主要动植物的遗传多样性研究进行了总结，认为多态位点百分率(P)和平均期望杂合度(H_e)是衡量遗传多样性水平的重要参数，而 Qian 等(2001)则认为期望杂合度(H_e)和 Shannon 指数(I)在遗传多样性的评估上比多态位点百分率更加有效。近年来，许多遗传多样性研究都借助于分子标记的手段，但其多样性的分析和评估主要以 Hamrick and Godt (1989) 的统计结果为参照。由于等位酶是生化水平，主要是对功能基因的表达产物进行检测，只能反应一部分功能基因的情况，而对大部分功能基因和大量非功能 DNA 区域无法检测，且其所能检测的多态性较低，逐步为分子标记所取代。直接将基于分子标记(如 RAPD)的数据和等位酶进行比较，这种做法仍待商榷。而不同显性标记之间以及显性标记和共显性标记之间是否具有可比性也颇具争议。Nybom and Bartish (2000) 对基于 RAPD 标记的遗传参数进行了统计分析，并讨论了遗传参数与生活史、地理分布、繁育系统及演替阶段等因素的关系。Nybom (2004) 又对几种分子标记的参数的可比性和不同类型植物的遗传多样性和遗传分化参数进行了统计分析，但其统计的参数仅限于期望杂合度(H_e)和遗传分化值(G_{st} 和 Φ_{st})，而且对基于 ISSR 和 AFLP 的研究的物种的统计较少。本文对 235 篇中英文期刊(其中英文文献 207 篇)所报道的约 314 种野生种子植物的遗传多样性参数进行了统计分析，对几种常用分子标记(RAPD、ISSR、AFLP、SSR)及等位酶之间数据的可比性进行了分析，以期为种子植物遗传多样性的评估提供参考。

1　研究方法

本研究主要是通过查阅文献，记录各项遗传多样性参数，再分别计算各项参数的平均值和标准差，并利用 SPSS 软件对不同标记、不同类型间参数的可比性进行差异显著性检验。在统计过程中，坚持三点原则：一是限于种子植物，即裸子植物、双子叶植物和单子叶植物，

动物、蕨类及真菌等不在统计范围内；二是限于野生植物或野生居群，而对栽培品种和居群不予统计；三是所统计的物种是随机的，统计了所有查到的基于 RAPD、ISSR、AFLP、SSR 研究的种子植物，而等位酶的数据引自 Hamrick and Godt (1989) 的统计结果。在遗传多样性参数的选择和使用上，Hamrick and Godt (1989) 认为多态位点百分率 (P) 和期望杂合度 (H_e) 比较重要，而且他较注重物种水平的多样性；而 Nybom and Bartish (2000) 及 Nybom (2004) 则认为期望杂合度 (H_e) 和 Shannon 指数 (I) 更为重要，并注重物种在种群水平的遗传多样性。考虑到多数物种在遗传多样性研究中，取样常局限于部分区域，物种水平的多样性可能会被参数值低估，故本文中统计的遗传多样性参数也以种群水平为主，使用了 5 个重要的遗传多样性和遗传分化参数：P_{pop} (种群水平的平均多态位点百分率)、H_{pop} (种群水平的平均期望杂合度)、I_{pop} (种群水平的平均 Shannon 指数)、G_{st} (Nei's 遗传分化值) 和 Φ_{st} (基于 AMOVA 分析的遗传分化值)。

本文中，将生活史特性分为 4 个方面：分类地位、生活型、繁育系统和分布范围。分类地位包括裸子植物、双子叶植物和单子叶植物；生活型包括草本、灌木和乔木；繁育系统包括克隆繁殖、自交、兼性繁殖、异交 (又分虫媒和风媒)；分布范围包括濒危 (及狭域) 种和广布种。

2　结果和讨论

本文共收集了 235 篇关于种子植物遗传多样性的文献 (凡参数统计文献列于附件中，而未在正文文献中罗列)，统计了 314 种的遗传多样性参数值，其中裸子植物 54 种，双子叶植物 215 个，单子叶植物 45 种；基于 RAPD 的 133 种，AFLP 的 69 种，ISSR 的 66 种，SSR 的 46 种；科属分布上，松科最多 (25 种)，豆科次之 (24 种)，禾本科、菊科和壳斗科等也较多。在 235 篇文献中，有 54 篇是发表在 *Molecular Ecology* 上，其他文献来源主要有 *American Journal of Botany*、*Annals of Botany* 及 *Heredity* 等刊物。

2.1　不同分子标记间遗传多样性参数的比较分析

自上世纪 70 年代以来，等位酶一直作为检测植物遗传多样性的基本手段，积累大量的研究数据和资料。Hamrick and Godt (1989) 对不同生活史特性的植物遗传多样性参数进行了系统的统计分析，其结果至今仍是遗传多样性研究和评估的重要参考依据。由于 RAPD、ISSR、AFLP、SSR 等标记主要是上世纪 90 年代以后才发展起来，基于分子标记的遗传多样研究相对较少，缺乏系统的统计分析。所以目前许多基于分子标记的研究分析中，其遗传多样性的评估仍然是以 Hamrick and Godt (1989) 的统计结果作为主要的判断标准。将基于分子标记的参数值直接与等位酶的统计结果相比较，其合理性争议较大。本文对三种显性标记 RAPD、ISSR、AFLP 及共显性标记 SSR 的遗传多样性参数进行了统计分析，并与 Hamrick 的统计结果进行了对比分析，结果见表 1 及 2。

从表 1 及 2 可见，RAPD 和 AFLP 的 4 个遗传多样性参数 (P_{pop}、H_{pop}、G_{st} 和 Φ_{st}) 之间没有显著性差异 (差异显著性概率 $P > 0.05$)，可以直接比较；而 ISSR 虽然同为显性标记，但与前两种标记间差异极显著 ($P < 0.01$)，不宜直接比较。

表 1　五种标记间遗传多样性参数的比较

Table 1　Comparison of 5 parameters of genetic diversity detected by different molecular markers

参数 Parameter	等位酶 Allozyme	RAPD±SD (N)	ISSR±SD (N)	AFLP±SD (N)	SSR±SD (N)
P_{pop}	0.346	0.517±0.212 (54)	0.403±0.182 (41)	0.519±0.199 (40)	—
H_{pop}	0.113	0.170±0.085 (48)	0.123±0.076 (47)	0.174±0.073 (50)	0.541±0.197 (29)
I_{pop}	—	0.293±0.195 (30)	0.186±0.146 (42)	0.262±0.062 (7)	—
G_{st}	0.228	0.256±0.181 (29)	0.408±0.206 (37)	0.254±0.187 (25)	0.311±0.258 (18)
Φ_{st}	—	0.342±0.208 (45)	0.482±0.257 (41)	0.297±0.178 (26)	0.499±0.350 (8)

注：P_{pop}：居群水平的平均多态位点百分率；H_{pop}：居群水平的平均期望杂合度；I_{pop}：居群水平的平均 Shannon 指数；G_{st}：遗传分化值 (假设 Hardy-Weinberg 平衡)；Φ_{st}：遗传分化值 (基于 AMOVA 分析)；N：样本统计量。等位酶数据引自 Hamrick and Godt (1989)，其它数据缘自本统计

Note: P_{pop}: Average percentage of polymorphic site in population level; H_{pop}: Average percentage of expected heterozygosity in population level; I_{pop}: Average percentage of Shannon's parameter in population level; G_{st}: Genetic differentiation (assuming Hardy-Weinberg Equilibrium); Φ_{st}: Genetic differentiation (based on AMOVA analysis); N: Statistic . The data of allozyme is from Hamrick and Godt (1989), others from this study

表 2 不同标记间参数的差异显著性分析 - 独立样本的 t 检验（RAPD、ISSR、AFLP 及 SSR）

Table 2 Analysis of significant difference of the parameters among different markers-independent samples t test (RAPD、ISSR、AFLP and SSR)

遗传多样性参数 Parameters of genetic diversity	P_{pop}			H_{pop}			I_{pop}			G_{st}			Φ_{st}		
统计参数 Statistical parameters	df	t	p	df	t	p	df	t	p	df	t	p	df	t	p
RAPD vs ISSR	101(a)	3.933	0.000	93(a)	2.810	0.006	51(b)	2.537	0.014	66(a)	-3.047	0.003	85(a)	-2.655	0.009
RAPD vs AFLP	92(a)	-0.029	0.977	96(a)	-0.278	0.781	—	—	—	53(a)	-0.115	0.909	73(a)	0.975	0.333
ISSR vs AFLP	87(a)	-3.784	0.000	95(a)	-3.381	0.001	—	—	—	61(a)	2.740	0.008	70(a)	3.267	0.002
RAPD vs SSR	—	—	—	34(b)	-9.594	0.000	—	—	—	46(a)	-0.986	0.329	—	—	—
ISSR vs SSR	—	—	—	33(b)	-10.906	0.000	—	—	—	54(a)	1.321	0.192	—	—	—
AFLP vs SSR	—	—	—	32(b)	-9.627	0.000	—	—	—	41(a)	-0.842	0.405	—	—	—

注：本分析只包括 RAPD、ISSR、AFLP 及 SSR 4 种标记，而等位酶的结果直接引自 Hamrick 等（1989），故不包括；所有分析的样本数 $N \geq 10$（$df \geq 9$）；所有参数的差异显著性分析为双尾检验，并经过方差齐性检验，a：齐；b：不齐；df：自由度；t：t 值；p：显著性概率

Note: This analysis includes 4 markers, namely RAPD, ISSR, AFLP and SSR, the result of allozyme is cited from Hamrick (1989). All sample size (N) are more than 10, namely $df \geq 9$. The significant difference tests of all parameters are two-tailed test, and are tested by homogeneity of variance; a: homogeneity, b: heterogeneity; df: degree of freedom; t: t value; p: probability of significance

Kumer（2001）利用 RAPD 和 ISSR 对 *Scirpophaga incertulas* 的遗传多样性进行研究，发现 RAPD 在对遗传变异的检测上并不逊于 ISSR，而且利用两种标记进行联合聚类分析，其结果与单独聚类的结果一致，并认为这两种标记之间具有较好的可比性。我们认为，Kumer 等（2001）的结论可能只是个例，不具有普遍意义。另外，Nybom（2004）也认为 3 种显性标记 RAPD、ISSR、AFLP 之间是可以直接比较的（表 3）。但是，他的统计中，ISSR 标记的统计量较小，可能存在较大的统计误差。

表 3 三种显性标记间遗传多样性参数的比较（Nybom，2004）

Table 3 Comparison of genetic diversity among 3 dominant markers (Nybom, 2004)

参数 Parameters	RAPD±SD (N)	AFLP±SD (N)	ISSR±SD (N)
H_{pop}	0.22±0.12(60)	0.23±0.08(13)	0.22±0.08(4)
G_{st}	0.27±0.21(46)	0.21±0.14(12)	0.34±0.29(6)
Φ_{st}	0.34±0.24(116)	0.35±0.18(21)	0.35±0.25(9)

为了进一步分析 RAPD 和 AFLP 间参数的可比性，本文对 4 个物种的遗传多样性研究结果进行了比较（表 4），每个物种均采用这两种方法进行了检测。经成对样本的 t 检验，RAPD 和 AFLP 参数之间差异并不显著（$t = -1.424$，$p = 0.185$），这也进一步说明 RAPD 和 AFLP 参数间较好的可比性。

Corre 等（1997）在比较了 RAPD 和等位酶在 *Quercus petraea* 中的遗传多样性数据后认为，两者是可以比较的。但这种比较也为其他一些学者所质疑（Nybom，2004；Díaz 等，2001）。本文把所统计的数据与 Hamrick and Godt（1989）的统计结果进行比较发现，等位酶的 P_{pop} 和 H_{pop} 的统计平均值都明显比其它 4 种标记更低，但遗传分化

表 4 RAPD 和 AFLP 在同一物种的遗传多样性检测上的参数比较

Table 4 Comparison of genetic diversity detected by RAPD and AFLP within same species

物种 Species	标记 Markers	H_s	H_{pop}	G_{st}	文献 Reference
Guizotia villosa	AFLP	0.320	0.240	0.190	Geleta 等（2007）
	RAPD	0.230	0.190	0.150	
Guizotia zavattarii	AFLP	0.370	0.170	0.410	Geleta 等（2007）
	RAPD	0.280	0.140	0.400	
Camellia nitidissima	AFLP	0.244	0.129	—	Tang 等（2006）
	RAPD	0.270	0.107	—	
Prinus oocarpa	AFLP	0.369	0.342	0.073	Díaz 等（2001）
	RAPD	0.403	0.358	0.112	

值差异不很明显（表 1）。由于缺乏等位酶各统计参数的样本资料，故未能对等位酶和其它标记间参数的可比性进行差异显著性检验。从表 1 中可见，等位酶的参数平均值远低于 ISSR 标记的参数值，而 ISSR 的参数值明显低于另外几种标记。以此推论，等位酶与各分子标记间的参数值是不宜比较的。

关于显性标记与 SSR 间的可比性，从表 1 和 2 中可见，SSR 与 3 种显性标记间的遗传多样性值（H_{pop}）差异极为显著（$P < 0.01$），而遗传分化值（G_{st}）差异不明显（$P > 0.05$），说明它们之间也不宜比较（特别是遗传多样性值）。SSR 作为一种共显性标记，其参数值并不能与这 3 种显性标记间进行比较，与同为共显性标记的等位酶之间也是不能直接比较的，这与 Nybom (2004) 的分析结果相一致。

综上所述，在遗传多样性的评估上，只有 RAPD 和 AFLP 之间具有较好的相关性和可比性，其它标记间不宜直接比较。在遗传多样性和遗传结构的研究中，最好能用两种或以上的共显性和显性标记进行对比研究，参数值的比较最好是同一标记间比较。今后的研究中，应加强同一物种不同标记类型的比较研究，这有利于进一步探讨各种标记间在参数值上的相互关系和可比性。

2.2　遗传分化值 G_{st} 和 Φ_{st} 间的可比性

居群间的遗传分化系数一般用分化指数 F_{st} 来表示，它通过等位基因频率计算得到，但它需要居群处于 Hardy-Weinberg 平衡时才有意义 (Lynch 等，1994；Palacios 等，1997)。由于 RAPD、ISSR 和 AFLP 等显性标记不能提供这一信息，通常采用 AMOVA 分析计算的 F_{st} 相似数 Φ_{st} 来代替，而 G_{st} 是 POPGENE1.31 软件在假定 Hardy-Weinberg 平衡情形下估算的居群之间的遗传分化值。因此，G_{st} 与 Φ_{st} 都是 F_{st} 的近似值。由于本统计中，大多数是显性标记，故遗传分化值为 G_{st} 和 Φ_{st}。本文对两个参数进行了独立样本的差异显著性检验，结果表明，G_{st} 值明显低于 Φ_{st} 值（$t = -2.094$，$p = 0.037$，$df = 207$），故二者间也不宜直接比较。

2.3　不同生活史类型植物间的参数比较

基于前文中，RAPD 和 AFLP 之间具有较好相关性和可比性的结论，本文将这两种标记的参数值进行联合分析。在本研究所统计 202 个研究个体中，RAPD 的占 133 种，AFLP 的占 69 种 (表 5)。

表 5　不同类型植物的遗传变异和分化值（基于 RAPD、AFLP 标记）

Table 5　The genetic diversity and differentiation of different species (based on RAPD and AFLP)

参数 Parameters	P_{pop} ± SD (N)	H_{pop} ± SD (N)	I_{pop} ± SD (N)	G_{st} ± SD (N)	Φ_{st} ± SD (N)
植物类型					
裸子植物	0.546±0.171 (24)	0.198±0.080 (24)	0.416±0.190 (9)	0.198±0.126 (13)	0.176±0.128 (13)
双子叶植物	0.505±0.213 (66)	0.164±0.076 (75)	0.251±0.147 (36)	0.249±0.176 (43)	0.332±0.207 (75)
单子叶植物	0.492±0.227 (19)	0.164±0.078 (19)	0.257±0.117 (8)	0.311±0.199 (11)	0.339±0.214 (17)
生活型					
草本	0.513±0.223 (44)	0.162±0.084 (48)	0.238±0.104 (16)	0.298±0.174 (26)	0.378±0.203 (49)
灌木	0.460±0.209 (15)	0.165±0.065 (14)	0.203±0.077 (8)	0.297±0.257 (8)	0.315±0.221 (20)
乔木	0.518±0.200 (54)	0.179±0.073 (59)	0.317±0.185 (31)	0.219±0.164 (36)	0.248±0.186 (37)
繁育系统					
营养	0.566±0.217 (15)	0.167±0.096 (16)	—	0.240±0.180 (10)	0.244±0.120 (13)
自交	0.346±0.234 (10)	0.086±0.059 (8)	0.131±0.089 (6)	—	0.483±0.183 (11)
兼性	0.445±0.242 (8)	0.142±0.088 (10)	0.137±0.029 (5)	0.481±0.135 (5)	0.364±0.229 (10)
异交	0.511±0.208 (85)	0.178±0.074 (90)	0.301±0.164 (46)	0.230±0.174 (53)	0.323±0.218 (72)
虫媒	0.490±0.210 (50)	0.161±0.063 (54)	0.262±0.133 (34)	0.264±0.174 (30)	0.314±0.207 (55)
风媒	0.537±0.206 (34)	0.201±0.082 (35)	0.410±0.208 (11)	0.183±0.170 (22)	0.331±0.260 (18)
分布型					
狭域及濒危	0.442±0.200 (50)	0.157±0.076 (49)	0.249±0.165 (30)	0.259±0.170 (32)	0.318±0.191 (45)
广布	0.566±0.201 (61)	0.181±0.077 (70)	0.320±0.148 (23)	0.237±0.180 (34)	0.320±0.221 (59)

注：统计样本数 < 5 时，该参数不予列出；所有统计参数为所有统计样本的算术平均数（SD：标准差，N：样本数）

Note: The parameters of statistical samples less than 5 are not listed, all statistical parameters are arithmetic average of all statistical samples (SD: standard deviation, N: sample size)

2.3.1 **分类地位** 本文将所统计的物种按分类地位分为裸子植物、双子叶植物和单子叶植物 3 类。在种群水平上，裸子植物具有相对较高的遗传多样性值（P_{pop}、H_{pop} 和 I_{pop}），而双子叶植物和单子叶植物的参数值比较接近（表 5）。在 Nybom and Bartish (2000) 基于 RAPD 标记的统计中，裸子植物在种群水平的期望杂合度（H_{pop}）约为双子叶和单子叶植物的两倍，但其裸子植物仅统计了 5 种，其随机误差可能较大。从本研究的统计结果看，裸子植物在种群水平上具有比被子植物更高的遗传多样性。另一方面，裸子植物的遗传分化值（G_{st} 和 Φ_{st}）相对较低，这与 Nybom and Bartish (2000) 和 Hamrick and Godt (1989) 的统计结果是一致的。这可能与裸子植物寿命较长、异交、风媒传粉等特性有关（Nybom and Bartish，2000；Díaz，2001）。双子叶植物的遗传多样性值与单子叶植物相似，而遗传分化值略低，这与 Nybom and Bartish (2000) 的结果较一致，而与 Hamrick and Godt (1989) 的结果不同。

2.3.2 **生活型** 就生活型的划分，Hamrick and Godt (1989)、Nybom and Bartish (2000) 及 Nybom (2004) 都将其分为一年生植物、短命多年生草本、长命多年生草本和长命多年生木本，而在本文中把所有统计的物种划分为草本、灌木和乔木 3 种类型。

在种群水平上，乔木在多态位点百分率（P_{pop}）、期望杂合度（H_{pop}）和 Shannon 指数（I_{pop}）3 个参数上都表现出较高的遗传多样性（表 5），而 Hamrick and Godt (1989)、Nybom and Bartish (2000) 及 Nybom (2004) 的统计中，长命多年生木本植物的 P 和 H 参数也都比较高（前者的参数是种群水平，而后者是物种水平）。而在遗传分化值上，乔木的 G_{st} 值和 Φ_{st} 值都较低，这与他们的结果也比较吻合。在本文的统计结果中，灌木的遗传多样性较低，而遗传分化值较大，这可能与其在森林群落中密度较低、易于片断化所致（Zhao 等，2006）。

2.3.3 **繁育系统** Hamrick and Godt (1989)、Nybom and Bartish (2000) 及 Nybom (2004) 所统计植物的繁育系统类型中仅包括自交、混交和异交，本文对部分克隆繁殖植物的遗传多样性也进行了统计分析。一般认为，克隆繁殖植物的遗传多样性比较低，特别是一些以克隆繁殖为主的入侵植物，虽然分布很广，但遗传背景相对单一，多样性低，如水葫芦（*Eichhornia crassipes*）、空心莲子草（*Alternanthera philoxeroides*）等，这可能源于其奠基者效应和缺乏种子补充（Ren 等，2004；Li 等，2006）。而本研究却发现，克隆植物具有相当高的遗传多样性，在 P 值和 H 值上都高于异交植物的遗传多样性；相应地，其遗传分化值则比较低（表 5）。克隆繁殖植物维持较高遗传变异的机制尚无定论，一些学者认为许多克隆植物也具有一定的有性繁殖能力，而这有限的种子和幼苗补充是其能维持较高遗传多样性的主要原因（Zhao 等，2006）。而自交植物，其遗传多样性明显低于其它类型的植物，而遗传分化相对较高，这与已有的研究结论是一致的（Hamrick and Godt，1989；Nybom and Bartish，2000；Nybom，2004；Chen 等，2005）。在他们和本文的统计中，异交繁殖的植物都保持着较高水平的遗传多样性和较低的遗传分化值。

异交植物主要包括虫媒和风媒两种情况，在本文所统计的物种中，风媒植物的 H 值和 I 值都明显地高于虫媒植物，而 P 值两者差异不大；相反，风媒植物的 G_{st} 值明显地低于虫媒植物，但 Φ_{st} 值两者比较接近，但笔者比较认同 G_{st} 的结果，Φ_{st} 可能是由于样本量较少导致的统计误差所致。在 Hamrick and Godt (1989) 的在物种水平上的统计中，风媒植物在 P 上略高于动物传粉类植物，而 H 值则没有明显差异；而动物传粉类植物的遗传分化值则明显高于风媒的遗传分化值（0.197 vs 0.099）。

2.3.4 **分布范围** Hamrick and Godt (1989)、Nybom and Bartish (2000) 及 Nybom (2004) 将所统计物种的分布范围划为 4 类：濒危、狭域、区域、广布。但从本文的统计结果上看，划为 4 类后，由于不同类型划分过细，相互间界限模糊，统计量也较小，导致随机误差较大，故将其仅划为两大类型：濒危（及狭域）分布种和广布种。从统计结果上看，广布种的遗传多样性明显比濒危（及狭域）分布类型的要高，但是两类的遗传分化值却差异不明显。在 Hamrick and Godt (1989) 的统计结果中，P 值和 H 值的变化非常明显：广布种 > 区域种 > 狭域种 > 濒危种；而遗传分化值恰恰相反。由于其统计量较大，数据应比较可信。在 Nybom and Bartish (2000) 及 Nybom

(2004) 的统计中，狭域种在种群水平的期望杂合度 H_{pop} 值为最高，而濒危类型的 H 值最低，但其遗传分化值也同样最低。但是，Nybom (2004) 在濒危种和狭域种的统计物种只有 7 种和 8 种，其统计的随机误差可能比较大。

Hamrick and Godt (1989) 和 Karron (1991) 等的研究结果都表明，特有或濒危种的遗传变异水平要比广布种低，特别是在居群水平上。但是，也有学者认为，地理分布幅度并不总是决定物种的遗传多样性水平和遗传结构的因素。而近年来的许多研究也表明，一些特有和濒危物种仍然维持着高水平的遗传变异，如 *Ophiopogon xylorrhizus*、*Cymbidium goeriugii*、*Hemerocallis taeanensi* 和 *Polygala reinii* 等 (Ge 等，1997；Nakagawa，2004；高丽和杨波，2006)。

表 6　广布种与濒危 (及狭域) 种种间参数的差异显著性 - 独立样本 t 检验

Table 6　Significant difference of parameters between the widespread and endangered (narrow) species-independent samples t test

独立样本 t 检验参数 Parameters of independent samples t test	自由度 Freedom df	T 值 T value	差异显著性概率 p Probability of significant difference
多态位点百分率 (P_{pop})	99	3.279	0.001
期望杂合度 (H_{pop})	108	1.646	0.103
Shannon 指数 (I_{pop})	42	1.418	0.164
遗传分化值 (G_{st})	59	-0.877	0.384
AMOVA 遗传分化值 (Φ_{st})	91	-0.588	0.558

注：所有差异显著性分析经方差齐性分析为齐

Note: All analysis of significant difference are analyzed by homogeneity of variance

为了进一步比较研究濒危种和广布种的遗传多样性，本文总结了 9 例濒危种及其广布近缘种间的对比研究 (表 7)。无论是基于等位酶的研究，还是基于其它分子标记，广布种一般都表现出较高的遗传多样性，只有 Ellis (2006) 对于濒危种 *Helianthus verticillatus* 及其广布近缘种 *H. angustifolius* 的研究中，濒危种的遗传多样性值比广布种高。因此我们认为，广布种在通常情况下具有较濒危种更高的遗传多样性，但这不是绝对的；然而，一些人为因素导致的濒危种 (如药用植物等)，由于其遗传基础较丰富，其野生种群数量和个体数量可能很少，但仍然可能维持着较高的遗传多样性 (Zhang 等，2006)。而一些地理上和进化上的残遗种则表现出极低的遗传多样性，如五针白皮松 (*Pinus squamata*)、夏蜡梅 (*Sinocalycanthus chinensis*) (Zhang，2005；Li and Jin，2006；Zhang，2007)。

3　总结和展望

随着分子生物学技术的飞速发展，新的分子标记类型层出不穷，遗传多样性和遗传结构的检测手段也越来越丰富。如何客观、真实地评估一

表 7　濒危种及其广布近缘种间遗传多样性和遗传分化的比较

Table 7　Comparison of genetic diversity and differentiation between endangered species and their widespread relatives

物种 Species	分布类型 Distribution type	标记 Marker	H_s	H_{pop}	G_{st}	文献 Reference
Adeophora lobophylla	狭域	等位酶	0.211	0.210	0.071	Ge 等 (1999)
A. botaninii	广布	等位酶	0.244	0.234	0.155	Ge 等 (1999)
Ophiopogon xylorrhizus	濒危	等位酶	0.116	0.091	—	He 等 (2000)
O. intermedius	广布	等位酶	0.426	0.352	—	He 等 (2000)
Scabiosa canescens	濒危	等位酶	—	0.04 - 0.39	0.164	Patrik and Stefan (1998)
S. columbaria	广布	等位酶	—	0.18 - 0.45	0.123	Patrik and Stefan (1998)
Tetraena mongolica	濒危	等位酶	—	0.245	0.051	张颖娟和杨持 (2000)
Zygohpyllon xanthoxylon	常见	等位酶	—	0.392	0.020	张颖娟和杨持 (2000)
Gymnadenia odoratissima	濒危	SSR	—	0.3 - 0.7	0.190	Gustafsson and Sj gren-Gulve (2002)
G. conopsea	常见	SSR	—	0.6 - 0.8	0.060	Gustafsson and Sj gren-Gulve (2002)
Helianthus verticillatus	濒危	SSR	0.480	—	0.118	Ellis 等 (2006)
H. angustifolius	广布	SSR	0.350	—	0.207	Ellis 等 (2006)
Pinus squamata	濒危	RAPD	0.019	—	0.011	Zhang 等 (2005)
P. contorta	广布	RAPD	0.460	—	0.061	Thomas 等 (1999)
Camellia changii	濒危	RAPD	0.144	—	—	罗晓莹等 (2005)
C. rosthorniana	广布	RAPD	0.217	—	—	罗晓莹等 (2005)
Cunninghamia konishii	濒危	AFLP		0.184	0.246	Chung 等 (2004)
C. lanceolata	广布	AFLP		0.286	0.122	Chung 等 (2004)

个物种的遗传多样性，为濒危和稀有植物的利用和保护提供有效信息，成为保护生物学的重要任务。然而要评估物种的遗传多样性，就必须有一个可靠的原则和可信的参照物。由于当前进行过遗传多样性研究的物种还很少，数据积累不多，有些植物科属、类型尚没有可用的参考资料，我们需对不同科属、类型的植物进行比较，对不同手段所得出的结果进行比较。本文在 Hamrick and Godt (1989)、Nybom and Bartish (2000)、Nybom (2004) 等的工作的基础上做了进一步探讨，对近些年应用较多的 ISSR 及 AFLP 等标记的研究进行总结和补充，以期为遗传多样性的研究和评估提供参考。

〔参 考 文 献〕

郑成木，2002. 植物分子标记原理与方法 [M]. 海南：华南热带农业大学出版社

施立明，贾旭，胡志昂，1993. 遗传多样性 [A]. 见：陈灵芝，中国的生物多样性 [M]. 北京：科学出版社，31—113

Ayala FJ, Kiger JA, 1984. Modern Genetics (2nd ed.) [M]. Benjamin: Cummings Publishing Company

Botstein B, White RL, Skolinck MM *et al.*, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, **32**: 314—331

Chen JM, Gituru WR, Wang YH *et al.*, 2005. The extent of clonality and genetic diversity in the rare *Caldesia grandis* (Alismataceae): Comparative results for RAPD and ISSR markers [J]. *Aquat Bot*, **84**: 301—307

Chung JD, Lin TP, Tan YC *et al.*, 2004. Genetic diversity and biogeography of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae), an island species in Taiwan: a comparison with *Cunninghamia lanceolata*, a mainland species in China [J]. *Mol Phylogen Evol*, **33**: 791—801

Corre VL, Dumolin-Lapegue S, Kremer A, 1997. Genetic variation at allozyme and RAPD loci in sessile oak *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: the role of history and geography [J]. *Mol Ecol*, **6**: 519—529

Crawford DJ, 1990. Plant Molecular Systematics: Macromolecular Approaches [M]. New York: Wiley

Díaz V, Mu iz LM, Ferrer E, 2001. Random amplified polymorphic DNA and amplified fragment length polymorphism assessment of genetic variation in Nicaraguan populations of *Pinus oocarpa* [J]. *Mol Ecol*, **10**: 2593—2603

Ellis JR, Pashley CH, Hurke JM *et al.*, 2006. High genetic diversity in a rare and endangered sunflower as compared to a common congener [J]. *Mol Ecol*, **15**: 2346—2355

Gao L (高丽), Yang B (杨波), 2006. Genetic diversity of wild *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae) population from Hubei based on ISSR analysis [J]. *Biodivers Sci* (生物多样性), **14** (3): 250—257

Ge S, Zhang DM, Wang HQ *et al.*, 1997. Allozyme variation in *Ophiopogon xylorrhizus*, an extreme endemic species of Yunnan, China [J]. *Conserv Biol*, **11** (2): 562—565

Ge S, Wang KQ, Hong DY *et al.*, 1999. Comparisons of genetic diversity in the endangered *Adenophora lobophylla* and its widespread congener, *A. potaninii* [J]. *Conserv Biol*, **13** (3): 509—513

Geleta M, Bryngelsson T, Bekele E *et al.*, 2007. AFLP and RAPD analyses of genetic diversity of wild and/weedy *Guizotia* (Asteraceae) from Ethiopia [J]. *Hereditas*, **00**: 1—10

Gustafsson S, Sj gren-Gulve P, 2002. Genetic diversity in the rare orchid, *Gymnadenia odoratissima* and a comparison with the more common congener, *G. conopsea* [J]. *Conserv Genet*, **3**: 225—234

Hamrick JL, Godt ML, 1989. Allozyme Diversity in Plants Species [A]. In: Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL *et al.* (eds), Plant Population Genetics, Breeding and Germplasm Resources [M]. Sunderland: Sinauer Associates, Inc, 43—63

Hamrick JL, Godt MJW, 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species [J]. *Phil Trans Roy Soc London Biol Sci*, **351**: 1291—1298

Han JP, Zhang WS, Cao HB *et al.*, 2007. Genetic diversity and biogeography of the traditional Chinese medicine, *Gardenia jasminoides*, based on AFLP markers [J]. *Biochem Syst Ecol*, **35**: 138—145

He TH, Rao GY, You RL *et al.*, 2000. Genetic diversity of widespread *Ophiopogon intermedius* (Liliaceae s. l.): a comparison with endangered *O. xylorrhizus* [J]. *Biol Conserv*, **96**: 253—257

Karron JD, 1991. Patterns of Genetic Variation and Breeding Systems in Rare Plant Species [A]. In: Falk DA, Holsinger (eds). Genetics and Conservation of Rare Plants [M]. New York: Oxford University Press, Inc, 87—98

Kumar LS, Sawant AS, Gupta VS *et al.*, 2001. Comparative analysis of genetic diversity among Indian populations of *Scirpophaga incertulas* by ISSR-PCR and RAPD-PCR [J]. *Biochem Genet*, **39**: 297—309

Lee CE, 2002. Evolutionary genetics of invasive species [J]. *Trends Ecol Evol*, **17**: 386—391

Li JM, Jin ZX, 2006. High genetic differentiation revealed by RAPD analysis of narrowly endemic *Sinocalycanthus chinensis* Cheng et S. Y. Chang, an endangered species of China [J]. *Biochem Syst Ecol*, **34**: 725—735

Li WG, Wang BR, Wang JB, 2006. Lack of genetic variation of an invasive clonal plant *Eichhornia crassipes* in China revealed by RAPD and ISSR markers [J]. *Aquat Bot*, **84**: 176—180

Luo XY (罗晓莹), Tang GD (唐光大), Xu H (许涵) *et al.*, 2005. Genetic diversity of three endemic and endangered species of the family Theaceae in Guangdong, China [J]. *Biodivers Sci* (生物多样性), **13** (2): 112—121

Lynch M, Milligan BG, 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers [J]. *Mol Ecol*, **3**: 91—99

Moritz C, Hillis DM, 1990. Molecular Systematics: Context and Contro-

versies [A] . In: Hillis DM, Moritz C (eds .) . Molecular Systematics [M] . Sunderland: Sinauer, 1—11

Nakagawa M, 2004 . Genetic diversity of fragmented populations of *Polygala reinii* (Polygalaceae), a perennial herb endemic to Japan [J] . *J Plant Research*, **117**: 355—361

Nybom H, Bartish IV, 2000 . Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants [J] . *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, **3** (2): 93—114

Nybom H, 2004 . Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J] . *Mol Ecol*, **13**: 1143—1155

Palacios C, Gonzalez-candelas F, 1997 . Analysis of population genetic structure and variability using RAPD markers in the endemic and endangered *Limonium dufourii* (PLumbaginaceae) [J] . *Mol Ecol*, **6**: 1107—1121

Qian W, Ge S, Hong DY, 2001 . Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers [J] . *Theor Appl Genet*, **102**: 440—449

Qiu F (**邱芳**), Fu JM (**伏健民**), Jing DM (**金德敏**) *et al.*, 1998 . The molecular detection of genetic diversity [J] . *Biodiversity Science* (**生物多样性**), **6** (2): 143—150

Ren MX, Zhang QG, Zhang DY, 2005 . Random amplified polymorphic DNA markers reveal low genetic variation and a single dominant genotype in *Eichhornia crassipes* populations throughout China [J] . *Weed Res*, **45**: 236—244

Sakai AK, Allendorf FW, Holt JS *et al.*, 2001 . The Population biology of invasive Species [J] . *Annu Rev Ecol Syst*, **32**: 305—332

Soltis PS, Soltis DE, 1989 . Isozymes in Plant Biology . Portland: Dioscorides Press

Soltis PS, Soltis DE, 1991 . Genetic variation in endemic and widespread plant species: examples from Saxifragaceae and *Polystichum* [J] . *Aliso*, **13**: 215—223

Tang SQ, Bin XY, Wang L *et al.*, 2006 . Genetic diversity and population structure of yellow camellia (*Camellia nitidissima*) in China as revealed by RAPD and AFLP markers [J] . *Biochem Genet*, **44**: 449—461

Thomas BR, Macdonald SE, Hicks M *et al.*, 1999 . Effects of reforestation methods on genetic diversity of lodgepole pine: an assessment using microsatellite and randomly amplified polymorphic DNA markers [J] . *Theor Appl Genet*, **98**: 793—801

Patrik W, Stefan A, 1998 . Comparison of quantitative genetic variation and allozyme diversity within and between populations of *Scabiosa canescens* and *S. columbaria* [J] . *Heredity*, **81** (1): 79—86

Zhang DF, Chen SL, Chen SY *et al.*, 2007 . Patterns of genetic variation in *Swertia przewalskii*, an endangered endemic species of the Qinghai-Tibet plateau [J] . *Biochem Genet*, **45**: 33—50

Zhang XP, Li XH, Qiu YX, 2006 . Genetic diversity of the endangered species *Kirengeshoma palmata* (Saxifragaceae) in China [J] . *Biochem Syst Ecol*, **34**: 38—47

Zhang YJ (**张颖娟**), Yang C (**杨持**), 2000 . Comparative analysis of genetic diversity in the endangered shrub *Tetraena mongolica* and its related congener *Zygophllum xanthoxylon* [J] . *Acta Phytoecol Sin* (**植物生态学报**), **24** (4): 425—429

Zhang ZY, Chen YY, Li DZ, 2005 . Detection of low genetic variation in a critically endangered Chinese pine, *Pinus squamata*, using RAPD and ISSR markers [J] . *Biochem Genet*, **43**: 239—249

Zhao QF, Wang G, Li QX, 2006 . Genetic diversity of five Kobresia species along the eastern Qinghai-Tibet plateau in China [J] . *Hereditas*, **143**: 33—40